

研究倫理委員会企画・研究倫理フォーラム「顕微鏡画像取得と定量解析の注意点」

■日時：2017年12月6日（水）18:45～20:15

■場所：神戸国際会議場 5階 501（第17会場）

●講演 1

「研究者が知っておくべき撮像時の注意点」

寺井 健太（京都大学大学院生命科学研究科）

●講演 2

「デジタル顕微鏡画像からの特徴量の定量化と統計処理のイロハ」

木村 暁（国立遺伝学研究所）

●フロアとのディスカッション

ファシリテーター：塩見 春彦（委員長）、木村 宏、胡桃坂仁志、菅澤 薫、
杉本亜砂子（日本分子生物学会理事長）

【イントロダクション】

○塩見 お忙しい中、これだけたくさんの方に集まっていただき大変感謝いたします。今回の研究倫理フォーラムは、「顕微鏡画像取得と定量解析の注意点」に関して2人の講演者の方にいろいろなやり方または考え方を発表していただきます。

今回、なぜ画像処理とか定量解析に注目したかと言いますと、昨今のトップジャーナルに出さなければならないというプレッシャーがきつところ、そういう環境の中だと（論文が）通りやすい図をつくる傾向のある人が出てくる。通りやすいというのは、つまり自分の立てた仮説とかモデルにできるだけ合う図を、たくさんの中から代表的な図ではなくて、そのモデルに合うような図を選ぶような傾向のある人がいる。さらにはもっとひどい場合は、自分の仮説とかモデルに合うようにその図を変えてしまう。または、定量的な処理をそのようにねじ曲げてやってしまう。そういうことがどうもあるようだということが見えてきています。

そういうことが一つと、もう一つは私たちの周り、ある一定以上の世代の人というのはちゃんとした倫理教育を受けていない人たちが意外に多いということ、したがって自分たちが学生のときのやり方がいまだに通用するのではないか。つまり、よくあるようにゲルを切って貼ってという、自分たちが学生のときにやっていたようなことを今までもやっていいんだと思っているような人がもしかしたら、まだ結構おられるのではないか。だから、それを若い人に押しつけているのかもしれない。

そういうことに関して、言ってみれば何をどこまでやっていいのか、やってはいけないのかというようなこと、こういうときにはどうすればいいか、ということをお二人の演者の方に話していただければと思います。1人は京都大学の寺井健太さん、2人目は国立遺伝学研究所の木村暁さんです。それでは、さっそく講演を始めてもらいたいと思います。寺井さん、お願いします。

（※2講演はConBio2017 オンデマンド配信対象となった〔2017年12月10日～2018年2月10日〕。また一部編集の上、日本分子生物学会ホームページにて2018年2月～8月の間、期間限定で講演スライド＋音声を公開）

【ディスカッション】

- 塩見 木村さん、どうもありがとうございました。それでは、今から約 30 分間フロアとのディスカッションを行いたいと思います。ディスカッションのファシリテーターとしまして、2 人の講演者の方と研究倫理委員会の委員の方、それと分子生物学会理事長の杉本さん、お願いします。最初に講演者に対する質問をいくつか受けたいと思いますが、何かございませんか。疑問点とかありましたら、どうぞ。
- フロア いろいろとためになって、ありがとうございます。あまりまとまっていないのですが、例えば顕微鏡で画像を撮影していて、最初にサンプルサイズを決めておかないといけないのでしょうか、A が足りないからあとで追加しようと思ったら、同一条件ですけど面性の条件に変わってくると思いますが、そのときはどうしたらいいのでしょうか。
- 寺井 別の日に同じようなセットで僕ならやります。理由は、まったく別の日に同じような実験をして同じような結果が得られるかどうかというのがいわゆる再現性の概念でとても大事なので、あとから足すという必要はないと思います。かつ、レジェンドによっては、例えば 3 回まったく同じような実験をして 1 回のデータを出して、同じような結果をあと 2 回手に入れていると書く人もいます。ですから、何しろちゃんと書くというのがポイントだと考えています。
- 木村（暁） 何回分けてインディペンデントにやりましたかというのを書かなければいけないときもあるので、n が 50 だけではダメで、3 回別々に実験をして 10,10,10 とか、ということを書かないといけない、書く欄もあるので。そう考えると、複数回実験するというのはどちらかというマストなのではないかと思えます。
- 胡桃坂 私、画像はそんなにプロじゃないのですが、最近投稿したジャーナルで、リプロデュースを 3 回やったのだったなら 3 回のデータをすべてサプリメントに出せと言われて、リプロデュースしたデータを全部サプリメントに付けさせられました。だから、結局前のタイプのコントロールも 3 回やっていないといけないということになるのですよ。だから、結局あとから足すと、それも含めて 3 回やることに多分なると思えます。
- 塩見 よろしいですか。ほかにございませんか。それでは、こんなに質問がないとは思わなかったので、どこから切り込んだらいいのかちょっと難しいところですが、どうぞ。
- フロア 僕自身が今、実験をやっている点ですが、例えば哺乳類、マウスとかの初期胚におけるイベントの 1 つ、コンパクションというものがあるじゃないですか。あれの定義が細胞間の境界がなくなると言われていますので、目視になってしまうじゃないですか、評価基準がこれに対して再現性があるのか、ないのかというのを試すために、僕自身ではなくて、ほかの人にもブラインドテスト的なかたちで一回タイミングを取ってもらって、そのデータを提示して、その中でも似たような傾向が、例えば実験区で変わっていたという場合に関しては正しいデータというか、ちゃんとやっていますというふうにアピールしても大丈夫なものなのかという点についてご相談したいです。
- 木村（暁） 2 つ答え方があって、まずブラインドテストに関しては、これも同じことばかり言いますが、投稿規定とかチェックリストに書いてあって、ブラインドテストをしましたか、あるいは本人がやりましたかということを書く欄がありますので、ブラインドテストを他人がやる、利害関係のない人がやるということは推奨されているということ。もう一つ画像処理的に言えば、思っているようなコンパクション、例えば境界がなくなるところの角度が、今まで細胞が 2 つ丸かったのに、何かすごくくっついているように見えるようになったら、もしかしたらそのくっついている角度とかで定量化できるかもしれないので、自分が直

感的に思っている特徴というのはもしかしたら定量化できるかもしれないので、そういう評価方法もあると思います。

○**フロア** ありがとうございます。

○**寺井** 定量化って、何かものすごいシンドイですよ。ただ、人間の目で見ると差が見えるというときは、ほぼすべて定量化できるはずである。なぜならば何らかの差を自分で見つけて光の強度なり色なり何なりで判断しているはずである。それを全部機械に起こしてやるのがいわゆる定量化のプロセスであると、昔習ったことがあります。

○**塩見** ほかによろしいでしょうか。それでは、まず切り口として、今日の講演者の方は特に若い人に向けてのメッセージが多かったと思いますが、昨今の問題というのはむしろPIのほうで、そのPIが自分の仮説とかモデルに合うようなデータを選んでくる。または、合うようなデータにつくり替える。または、つくり替えることを若い人に強要するということが多々起こっているようですが、それについてどう思いますか。

○**胡桃坂** それは良くないですよ。それ以外の言うことはないのですが。ただ、若い人って、ちょっと過度におじさんたちをビビりすぎていて、例えばその人の言うことを聞かなかつたら生きていけないようにされるような妄想にとらわれているだけで、その人が生きていけなくなるように若い人はできるのですよ。だから、そんなにビビらないで、もしも上の人が間違っているなと思ったら、別の人に「こんなことを言われたんですけど」と言っても、そこで生きていけなくなることはないです。だって、デパートメントの中に研究室はいっぱいあるんだから。何人かに相談したら1人ぐらいいは良心的な人がいて、1人ぐらいじゃなくてもピタッと合う人がいて、「じゃあ、うちにおいで」と言ってくれる人もいます。だから、よくあるのはそういう研究倫理の問題じゃなくても、ボスと合う・合わないで精神的な問題を抱えてしまって、でもそのボスのところじゃないと生きていけないという妄想にとらわれているのでまいてしまうことが問題なんですよ。だから、そうじゃなくて、もっといろんな人に話を聞くというのがベースかなと思うのですよ。だから、もっとフットワークを軽くいけば、楽になると思います。私、大学を変えましたからね。別にそれは悪いことがあったわけじゃないのだけど。だけど、やっぱりフットワークが軽いほうがいろいろ視野も広がって問題の解決が早いです。そう思います。

○**塩見** ほかの方はどうでしょうか。

○**菅澤** 胡桃坂さんが言われたのとほぼ同じなんですけど。最近、若い人が実験データの画像を多少なりとも改変するというところに、非常にナーバスになってしまっているかなという気がしています。例えば、撮れてきた写真が明らかにコントラストが低くて、ちょっとこのままでは使えないと思うようなものも、とにかく改変はいけないのだと思って、取りあえずそのまま使おうとするわけですよ。何かそういうすごく良くない傾向があるように私は思いますね。若い人にとっては、いろいろな人に話を聞いてもらうというのは基本だと思っていて、僕も学生さん達とは日頃からできるだけ直接研究の話をするようにしています。実際何をやっているのかということ、できるだけPIが把握するというのが一番大事なのかなと私は思います。

○**杉本** PIの問題に関しては、やはり力関係ですよ。上の人が言ったことには従わなければいけないのではないかというプレッシャーを感じてしまう学生さんが多いと思うのです。研究不正なんだけれども、パワハラ的な上下関係もかなりそこに影響してきてしまうというのはよくあることだと思うのです。やはり胡桃坂さんがおっしゃったように、できるだけいろいろなネットワークを持っておくということは大事だと思います。おそらく多くの大学でアドバイザーあるいは副指導教官のような制度をつくっていると思うのです。それが制度化されていなかったとしても、できるだけ普段からよその研究室の先生ともよく話すように

することは大事かなと思います。だから、学生側も遠慮する必要はないし、PI たちも自分の研究室の内情をほかの人に知られたくない、さっきもノートを見せたくないという話もありましたが、そうではなくて、もちろんデータの中身は見せたくないにしても、研究室のあり方というのはできるだけオープンにすることで、学生たちがストレスなく楽しく研究できる環境をみんなで作ってあげればと思います。

○**木村（宏）** コメントじゃなくて、話をころっと変えていいですか。研究倫理の委員会でちょっとしくじったことがあります、アンケート用紙とかをまったく今回は配っておらずフィードバックが得られないという、そういうことがあるんじゃないかと話の途中で気がつきました。

それで、帰られた方も多いのですけども。今回、画像解析と顕微鏡というので企画した発案者の1人であって、どうしてかという、やはりお話があったように我々はアナログ時代からデジタル世代に来て、それに沿って顕微鏡の画像取得方法も解析方法も変わってきて、それと共に歩んでいる人もいれば、今デジタル世代に突入してきた人もいて、みんな考えは結構違うのではないかなということで一回お話ししてもらおうがいいかなと思ったのです。

それで、今回のお話を聞いて、もう知っていたわいという選択肢と、そこそこ知っていたけど役に立った、あんまり知らなかったの役に立った。すいません、「役に立った」ばかりですけど。全然知らなかったの役に立った。あるいは、役に立たなかった。この5個で手を挙げていただいてフィードバックにしたいと思います。1番目が「知っていたわい」、2番目が「結構知っていたけど役に立った」、3番目が「まあまあけど役に立った」、最後「あんまり役に立たなかった」。では、4個でいきます。

「結構知っていましたよ」という人はいますか。いますね。次、「まあまあ知っていたけど役に立ちましたね」という人？大部分。「あまり知らなかったの結構役に立ちました」という人。「あまり役に立たなかった」という人。わかりました。予想していたのと同じぐらいの感じだったので、非常によかったのではないかと考えています。

なので、私のコメントはそんなにはないのですけど、今の話を聞いて何かまた皆さんのほうから、会場から何かあればと思います。

○**胡桃坂** 今の杉本さんの話を聞いて思い出したのだけど、実験ノートを見せてくれと言ってPIが嫌がるというのが、僕、すごく意外だった。僕なんか、見せたくて見せたくてしょうがなく、来る客来る客に見せつけて嫌がられている。

○**塩見** では、アンケートを採りましょう。自分のラボの実験ノートはちょっとよその学生には見せられないなと思う人って、挙げにくいかな。

○**胡桃坂** 見せたくて見せたくてしょうがない人はいます？俺だけ？結果の議論をするときは、必ず実験ノートで基本的には議論するようにしているのですよ。作図したほうがわかりやすいから、作図しつつ、こういう実験をしたのですけどねというのをノートで見せることを基本にしてやっています。だから、たぶん若い頃からそういう訓練、トレーニングをしておいたほうが良いと思います。結局最後はノートじゃないですか。

○**寺井** おっしゃるとおりです。私個人としては矛盾していると思うのですが、自分で書いたものが証拠になるというのはものすごく変だと思うのですけど、ただ残念ながら現状のサイエンスのフィールドだと自分の書いたものしかディフェンスする道具がないという。

○**胡桃坂** それで不思議に思ったのが、何でそれを見せてと言ったらPIが「嫌だ」と言うのかがわからなかったの。

○**塩見** 木村さん、お願いします。

○**木村（宏）** それはたぶん分量によるのではないですかね。今、オンゴーイングの研究をほかの人に見せた
いかどうか、すごい見せたい人もいれば。でも、これはすごく、今ホットなデータで。

○**胡桃坂** ホットであればあるほど見せたい。

○**木村（宏）** 見せたくないという人もいるので、その状況によるのではないのでしょうか。

○**塩見** 私がいる慶應大学医学部というか医学研究科では、(少なくとも)週に1回は学生のノートを見てPI
が署名をするということが決まっています、それは最初面倒臭いなと思っていたのですが、意外にいいこと
だなと思います。というのは、少なくとも週に1回は1時間ぐらい学生さんと話す機会を強制的であった
としても持てるという。そこでノートを見ながらディスカッションするという機会が生まれるので、悪くな
いなと今は思っています。そういうやり方も一つかなと今思いましたけど。

この機会にぜひディスカッションしておきたいという、ほかの人たちがどういうことを考えているかとい
うことを聞きたいなと思っていることがありましたら、ぜひこの機会に発言を。上村さん、どうぞ。

○**フロア（上村）** ちょっと皆さんにお伺いしたいのはデータの保存についてですが、それから一連のことを
やりすぎると非常に窮屈で、かえって本末転倒で現場の士気を下げるし、僕は一部の不毛だと思っているの
ですが、やりすぎると。例えば自然科学と一口で言っても、生命科学と狭く言ったようでも、実験によって
例えばどれぐらい保存するかというのはまちまちだと思うのですね。それを、まったくそういうことを無視
して何かルールをつくって、一応それでその場はしのぎたい。大学の理事が勝手に「データ10年間保存」
という判を押して、それを各部局にいきなり振ったりするわけですよ。それから、この実験のデータは誰
が今管理していますかということを残すのは大事なことだと思うのですが、やった人が卒業していったとき
に、全然その人に個人的に任せて、この人に「あなたが保存してね」と任せていいと僕は思っています。そ
れから、10年というのはまったく根拠がないし、理研では5年と聞いていて、まちまちなので、これは一
番影響力がある東京大学にできるだけ短くできるだけ負担の少ない保存方法にしてほしいのですが。その
あたりはそれぞれの研究室あるいは部局、大学で現状はどうなのでしょう。その辺をお伺いしたいと思います。

○**寺井** 京大の生命は上村さんがよくご存じのように、まだたぶんディスカッションの最中だと思います。一
回、東大のルールで、いわゆる10年間ウェスタンのサンプルを保存せよみたいな、そういうなめたことを
言ってきた理事がいて。それで、その理事に対して文句を言う人も各部局のトップのほうの人たちで、それ
は結局なしにしました。年数はよくわからないですね。5年のところもあれば、10年と最初は言ってきた
ところもありました。データの保存は、私たちは、うちのラボですけど、うちのラボはラボ単位のもの
と本人のもの、あとはPIのものというように3つ用意していますね。実際たぶん1個のハードディスク
で、つまり5万円の投資で10本分ぐらいの論文は入るので、もしそれでハードディスクが壊れてしまっ
たら、そのときはどうしようかという感じですけど。ただ、3つ取っておくというかたちにはしています。

○**木村（暁）** 国立遺伝学研究所ですけども、記録10年サンプル5年です。それで、やはり実験ノートは動
画とかも増えてきますし、プログラミングしたらすごい行数になるので、僕が学生のときには非常にきちん
とした指導教員だったので、分子生物学に関してノートを取ることはすごく厳しく言われたので、自分も分
子生物学をやっていたときにはノートもうまく取れていたのですが、アプローチを変えたら途端に動画と
かどうやって保存したらいいのだろうか、プログラムはどう保存したいかと迷うようになってきて、プロ
グラミングだと例えばクラウドに保存して変更履歴が全部残るみたいな、今のテクノロジーを利用すればも
うちょっと実験ノートの取り方自体も変わってくるのではないかとあって、私自身も今そういうことにも多

少興味を持って、今の時代に合ったノートの取り方ができるのではないかと思います。そうすると、だんだんそれに合って、例えば保存期間というのも簡単に保存できるようになるとか。そういうことにもなると思うので、取り方自体も変えていかなければいけないのではないかと思います。

○塩見 取り方について、最近電子ノートというのがあるでしょう。そちらに移行するところが多いように聞いているのですが、それは一つには手書きのノートというのをどこに保管していけばいいかという、そのスペースがどんどん足らなくなっていることがあって、電子ノートだったらいくらでもというか、小さなスペースで保管していける。だけど、それはいいことだと思いますか。

○木村（暁） それはたぶんすごく議論しなければいけないと思います。今盛んに言われているオープンサイエンスみたいなことがあると、例えば今日の実験ノートを全世界に公開したとしても、それであなたが今日やったということはわかるから、いわゆるプライオリティの問題とかは解決するから、それでいいのではないかという極論もあるとは思いますが、やはり研究活動というのはそういうものではないでしょという考え方もあるので、それも、答えを先送りするようですが、時代とともにみんなと議論して決めなければいけないのではないかと思います。コスト的に安くなるのは間違いないと思いますし、いつ誰がどういう処理を加えたかをトラックすることもできるので、そういうのは一つの方法ではないかと僕は思います。

○塩見 もうあまり時間がないのですが、あと一つぐらい、これはぜひ聞いておきたいとか、提言しておきたいということがありましたら。

○フロア ぜひ偉い先生たちがこの手の話に対してディフェンスしているのかということを知りたいですね。実際に教授室にこもってしまうという先生も何人かいらっしゃるし、そういう人たちはどうやって準備をして用意をしてディフェンスしているのかを私、個人的に聞きたいです。

○木村（宏） 私はまだ現役なので、全然こもってなく、学生と一緒に顕微鏡に、たまにしていますよね。なので、顕微鏡にしょっちゅう一緒に行っているんで自分の目で見ることはままあるので、だから問題がないというわけじゃないですけど。もっと偉い先生がここにいた。

○杉本 偉くはないのですが、もうトークの中でおっしゃってくださったことだと思いますが、ディスカッションするときにはノートを見る。うちも結構画像データが多いので、全体のラボセミナーだと代表例しか出してこないのですが、別にまたグループでディスカッションする時間を設けてあって、そのときはその代表例だけじゃなくて、ほかのも見せてと言って全部見せてもらうとか。やっぱり画像処理されたものだけを見せられて、それで話をしてしまうのが一番危険ですね。だから、指導する側としては、実験をもう私もなかなかできなくなっていますけども、学生の生のデータに近いところを見て、それをできるだけ複数人でシェアしながらディスカッションすることでやっていくしかないと思っています。

○菅澤 私もさっき言ったのですが、できるだけラボの中をウロウロするようにしています。別に監視をするという意図はないのですが、例えば大事なものが間違っ捨てられているのを見つけることもありますし、そういうこともあって僕がウロウロし始めると学生がそれなりに緊張するというのがあります。それは置いておいて、先ほど塩見さんもおっしゃっていましたが、ディスカッションは毎週、一応全員の話を聞く努力をされていて、ノートに検印みたいなものを押しています。学生が全然実験しないとノートが進んでいないので、わかってしまうのですが、要するに出てきた結果を PowerPoint にしたものを見るだけではなくて、実際にやっているものを生で見るという努力を、これは大変なんですけど、しないといけないのかなと思っています。

○**胡桃坂** 僕は明確な答えがあって、僕もいる限りはラボをウロウロして、こっちから先制攻撃を掛けるのですけど。だけど、ディスカッションは実験ノートを見ながらしきないです。実験ノートを見るのが大好きなので。あと、僕のところで必ずやっていることは、論文を投稿するときに取得したデータのその実験をしたときの生データが貼り付けた日付の入ったノートのコピーを一緒につけて、僕、全部自分の研究室にファイルしています。だから、僕のところにぎゅっと投稿した論文が棚にファイルになって入っていて、だからその論文で使ったデータはそこを見れば、実験ノートのコピーが日付付きに全部入っているので、ファーストオーサーの名前と実験ノートの日付でそこにバックできるようになっています。これは、僕が自分でバックできるようにするために考えたシステムで、それが全部揃わないと投稿していません。投稿するときに少なくともラボの中の共著者は全員で、その実験ノートに付いているデータと作図したデータが同一であることを全員で確認しています。この間は僕だけ見つけたのですよ。ちょっとだけ貼り付けるときに図が伸びたんですよ。別に電気泳動の図なのでちょっとぐらい伸びていたって、結論は何にもないのですけど、誰も気がつかなかったのだけ僕だけ、「これ、横幅が違う」って言い張って、結局調べたら本当に横幅がちょっと伸びていたのですよ。あのときは勝った気がしましたね。

○**塩見** 飯野さん、どうぞ。

○**フロア（飯野）** 東大の生物化学の飯野ですけど。学生さんが少ないですけども、いらっしゃるので、ちょっと今の議論、すごく議論していただいてよかったのですけど、気になるのは「自分のところの学生を信じていないのかよ」と思った学生がいるかもしれない。いくつか研究不正がありましたけど、たぶん PI が悪い場合が多いです。なので、むしろうちの専攻で今議論しているのは、ほかの研究室の学生さんと接する機会を増やしましょう、今おっしゃったような生データを見るようなディスカッションをしましょう。そういうことを考えています。

○**塩見** ありがとうございます。

○**胡桃坂** ちょっといいですか、信じていないわけではなくて、実験ノートを見るのが大好きが基本。ほとんどうちの場合は共同研究者がいるのですね。例えば木村さんとか深川さんとか山縣さんとか、菅澤さんもそうだけど、よその研究室と共同研究をして論文が出ているのがほとんどのケースで、そうするとだいたいその人たちのところに持って行ってデータを見せて説明をするので。その人たちがうちに来た場合は生データ、実験ノートを見せて議論するようにしています。そこで検証はできているんだと考えています。あと、必要であればその研究室にも生データを持って行って説明させるようにしています。

○**塩見** どうもありがとうございました。今回のフォーラムはできるだけテクニカルなところにフォーカスしたいと思っていました。それで、こういう企画をつくりました。だけど、ここに来られている人はもっと、例えばそういう不正を生み出す今の現状、自分のデータがいかにインパクトが高いか、いかにこれをうまく売り付けるか、いかにうまく宣伝するかということを要求される、つらい時代になっているので、しかもそれをやらないと職を取れないとか研究費を取れない。そういうこと自体が考えていかなければならないことですが、それはまた次のフォーラムでそういうことは企画していきたいと思います。ただ、やはりテクニカルなことを理解していくということは極めて重要なことだと思いますので、こういう企画もこれからも続けていきたいと思います。今日は参加していただきどうもありがとうございました。（拍手）

[了]